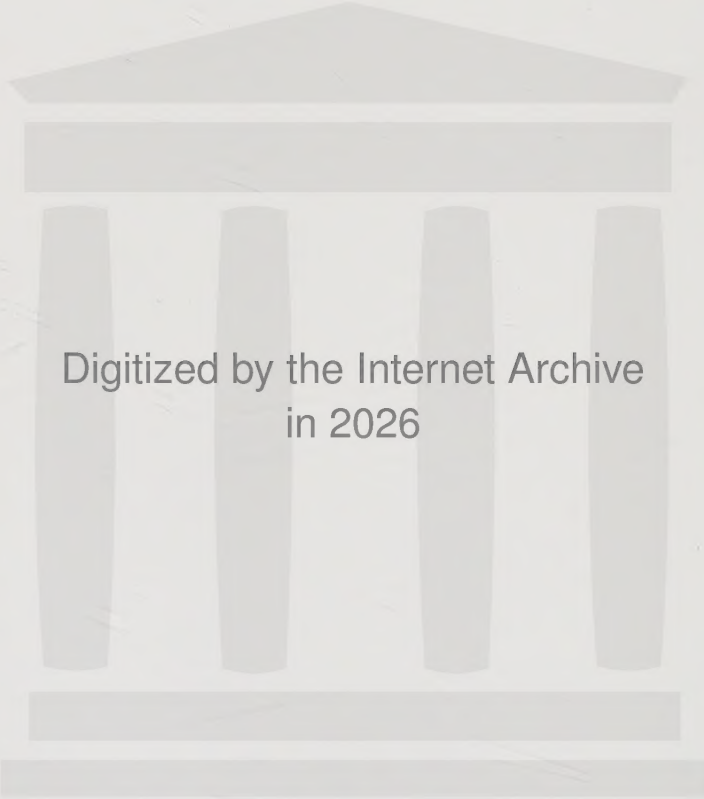


ZWEI APPARATUREN ZUR PERFUSION DES
ISOLIERTEN RATTENHIRNS

WALDEMAR URBAN

1971



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554425_0110

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. G. Kuschinsky)

ZWEI APPARATUREN ZUR PERFUSION DES
ISOLIERTEN RATTENHIRNS

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen
Fakultät der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von
WALDEMAR URBAN
aus Spatenfelde
Mainz 1971

Dekan:	Prof. Dr. Dr. W. Ketterl
Referent:	Prof. Dr. Dr. J. Krieglstein
Korreferent:	Prof. Dr. G. Kuschinsky
Tag der mündlichen Prüfung:	23. November 1971



gesamtherstellung
ditters bürodienst
mainz

Meiner Mutter

in Dankbarkeit gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	1
METHODIK	
1. Beschreibung von zwei Apparaturen zur Perfusion des isolierten Rattenhirns	3
2. Zubereitung des Perfusionsmediums	11
3. Messung der Sauerstoffspannung im Perfusionsmedium	12
4. Bestimmung der durch die Perfusionsapparaturen be- dingten Hämolyse	12
5. Präparation des isoliert perfundierten Rattenhirns	14
6. Ableitung des Elektroencephalogramms bei der Ratte	15
ERGEBNISSE	
1. Messung der Sauerstoffspannung im Perfusionsmedium	15
2. Bestimmung der durch die Perfusionsapparaturen be- dingten Hämolyse	15
3. Perfusion isolierter Rattenhirne	16
DISKUSSION	26
ZUSAMMENFASSUNG	30
LITERATURVERZEICHNIS	31

E I N L E I T U N G

Untersuchungen am isoliert perfundierten Gehirn haben gegenüber solchen am Ganztier den Vorteil, daß sie unter konstanten, genau definierbaren Versuchsbedingungen durchgeführt werden können. Die Perfusionstechnik ermöglicht die Wahl eines Perfusionsmediums bekannter Zusammensetzung, deren freie Variierbarkeit sowie den schnellen Austausch gegen ein Medium mit anderer Zusammensetzung. Bei der Untersuchung zentral wirksamer Substanzen verhindert der Fortfall großer Stoffwechselorgane, wie z. B. der Leber, den Abbau von zugeführten Substanzen, bevor diese überhaupt das Gehirn erreichen. Des weiteren wird durch die Trennung des Gehirns vom Restkörper eine unkontrollierte Einwirkung von Stoffwechselprodukten und körpereigenen Substanzen, die nicht aus dem Gehirn stammen, ausgeschlossen.

Das Gebiet der Perfusion eines isolierten Organs kann man in drei Teilgebiete unterteilen: die Präparationstechnik, die apparativen Fragen der Perfusionstechnik und das Perfusionsmedium.

Für mehrere Laboratoriumstierarten wurden Methoden zur Perfusion des isolierten Gehirns beschrieben, so z. B. für die Katze (CHUTE u. SMYTH, 1939; GEIGER u. MAGNES, 1947; GEIGER, 1961), den Hund (GILBOE et al., 1965), den Affen (WHITE et al., 1964) und die Ratte (ANDJUS et al., 1967; THOMPSON et al., 1968).

Die wesentlichen Unterschiede beruhen auf dem Grad der Isolierung des Gehirns von anderen anatomischen Strukturen. Dabei wird eine möglichst weitgehende Isolierung des Gehirns angestrebt, da alle außer dem Gehirn perfundierten Gewebe die durch die Perfusion gewonnenen Ergebnisse verfälschen können. Aufgrund der unterschiedlichen Gefäßanatomie und der geschützten Lage des Gehirns in der Schädelkapsel sind dazu meist schwierige Präparationstechniken erforderlich.

Besonders günstig erscheint deshalb ein isoliert perfundiertes Rattenhirn nach

ANDJUS et al. (1967), das von einer geübten Person in etwa einer Stunde fertiggestellt werden kann. Ein nicht zu vernachlässigender Faktor ist die Wirtschaftlichkeit, bedingt durch die relativ niedrigen Kosten der Ratten und der geringen Menge des benötigten, teuren Perfusionsmediums gegenüber größeren Laboratoriumstieren, was sich besonders bei umfangreicheren Perfusionsserien auswirkt.

Das isoliert perfundierte Rattenhirn besteht aus dem Schädel (ohne Unterkiefer) mit Inhalt und Muskelresten sowie den 3-4 oberen Halswirbeln. Die Perfusion erfolgt beidseits über die A. carotis interna. Die übrigen Arterien sind ligiert, so daß außer dem Gehirn nur unbedeutende und deshalb zu vernachlässigende Gewebmassen perfundiert werden. Die durch die Dekapitation bedingte Verletzung des Rückenmarks stellt sicher einen Nachteil dar. Dieser wird aber durch die sichere Trennung der Gehirndurchblutung vom Körperkreislauf des Tieres, einer unbedingten Voraussetzung zur quantitativen Erfassung des Gehirnerfusats, aufgewogen. Diese Trennung ist nicht sichergestellt, solange der Kopf mit dem Körper des Tieres in einem organischen Zusammenhang steht.

Zur geschlossenen Perfusion des isolierten Rattenhirns wurde eine geeignete Perfusionsapparatur benötigt. Eine erste Apparatur wurde in Anlehnung an Literaturangaben (LONG u. LYONS, 1954; YOUNG et al., 1955; ANDJUS et al., 1967; THOMPSON et al., 1968) gebaut und in zahlreichen Perfusionsversuchen erprobt. Dabei ergaben sich Ideen zur eleganteren Lösung einiger Probleme. Das Ergebnis war eine zweite Apparatur, die zwei getrennte Perfusionssysteme in sich vereinigt und ein einfaches, wirksames Oxygenierungsprinzip besitzt.

Beide Apparaturen bestehen weitgehend aus Glas. Die Schlauchverbindungen wurden auf das Notwendigste beschränkt, nachdem sich gezeigt hat, daß besonders lipophile Substanzen, wie z. B. Phenothiazine, an Gummi adsorbiert werden.

In dieser Arbeit werden beide Apparaturen ausführlich beschrieben. Außerdem wurde ihre Oxygenierungsleistung bestimmt und die durch die Perfusionsapparaturen bedingte Hämolyse des Mediums untersucht. Als Perfusionslösung wurde ein künst-

liches Medium verwendet, das aus gewaschenen Rindererythrozyten und gereinigtem Rinderserumalbumin, gelöst in Krebs-Henseleit-Lösung, bestand. Abschließend soll an einigen Perfusionsversuchen gezeigt werden, daß beide Apparaturen zur Perfusion des isolierten Rattenhirns geeignet sind.

M E T H O D I K

1. Beschreibung von zwei Apparaturen zur Perfusion des isolierten Rattenhirns:

Grundbestandteile einer jeden Perfusionsapparatur sind Pumpsystem und Oxygenator. Eine zweckmäßige Ergänzung stellen Filter und Druckregulierungsventil dar. Alle weiteren Einrichtungen wie spezielle Meßanordnungen hängen von den jeweiligen Anforderungen an die Apparatur ab.

Perfusionsapparatur I:

Als Oxygenator dient ein 30 cm langer, senkrecht montierter Kugelkühler, dessen Mantel von 39° C warmem Wasser durchspült wird (Abb. 1). Seinem oberen Ende sitzt ein Trichter auf, dessen Auslauf so gekrümmt ist, daß ein aufgesetztes und entsprechend zugeschnittenes Stückchen Polyvinylschlauch genau der Wandung der ersten Kugel des Kühlers anliegt. Wird nun der Trichterauslauf durch einen Elektromotor in Rotation um seine Längsachse versetzt, dann beschreibt die Spitze einen Kreis, immer der Kugelwandung eng anliegend. Gibt man nun das Perfusionsmedium über den Trichter ein, dann wird es durch die rotierende Auslaufspitze gleichmäßig auf die Wandung des gesamten Kugelkühlers verteilt. Passiv der Schwerkraft folgend fließt es in den Sammelkolben, der am unteren Ende des Kugelkühlers befestigt ist und in ein 39° C warmes Wasserbad eintaucht. Der Sammelkolben wurde aus einem normalen 250 ml-Kolben gefertigt,

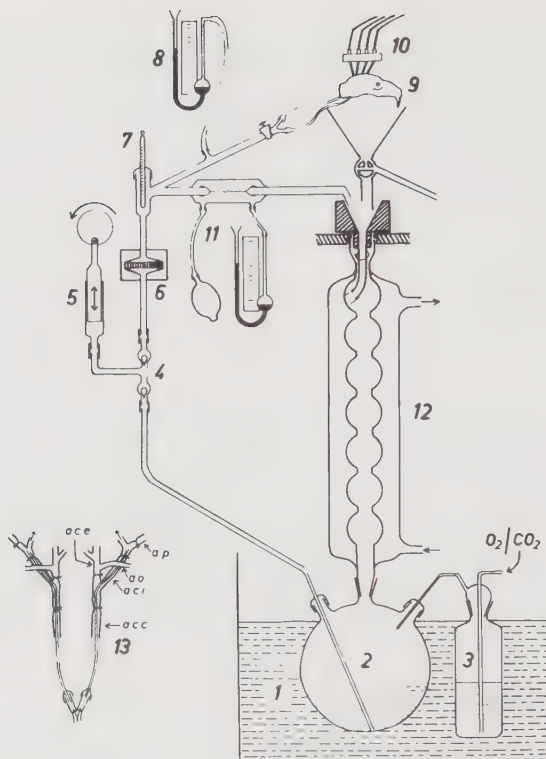


Abb. 1. Apparatur I zur Perfusion des isolierten Rattenhirns.

- 1 Wasserbad (39° C)
- 2 Vorratsgefäß für das Perfusionsmedium
- 3 Waschflasche für Carbogen mit physiologischer Kochsalzlösung
- 4 u. 5 Pumpe mit Ventil
- 6 Filter
- 7 Thermometer
- 8 Manometer zur Kontrolle des Perfusionsdrucks
- 9 Rattenschädel
- 10 Elektroden, die auf dem Schädeldach sitzen
- 11 Starlingwiderstand mit Manometer
- 12 Oxygenator
- 13 Schematische Darstellung der Gefäße mit eingebundenen Kathetern: a.c.c. = arteria carotis communis, a.c.i. = arteria carotis interna, a.c.e. = arteria carotis externa, a.o. = arteria occipitalis, a.p. = arteria pterygopalatina.

indem der ursprüngliche Kolbenhals dem unteren Ende des Kugelkühlers angepaßt und mit einem Glasschliff versehen wurde. Außerdem wurden seitlich davon zwei zusätzliche, kleinere Hälse eingelassen, die passende Gewinde für Quickfit-Verschlüsse tragen. Durch eine dieser seitlichen Öffnungen wird Carbogen (95 % O_2 + 5 % CO_2) nach Durchperlen einer $39^\circ C$ warmen physiologischen Kochsalzlösung eingeleitet. Nachdem das Carbogen das über dem Medium verbleibende Kolbenvolumen ausgefüllt hat, tritt es in den Kugelkühler über. Indem es im Gegenstrom über das in dünner Schicht an der Kugelkühlerwandung verteilte Medium streicht, äquilibriert es dieses mit Sauerstoff und Kohlendioxid.

Durch die zweite seitliche Öffnung führt ein Glasröhrchen vom tiefsten Punkt des Sammelkolbens zur Pumpe. Diese entspricht einer Kolbenpumpe. Sie besteht aus einer Ganzglasspritze. Der Kolben hat einen Durchmesser von 12 mm, der Kolbenhub beträgt etwa 10 mm. Der Antrieb erfolgt durch einen stufenlos regelbaren Elektromotor (Laborrührer Type RZR, Heidolph Elektro KG, Kelheim) mittels Exzentrerscheibe. Damit wirksame Pumparbeit geleistet werden kann, ist ein Ventilsystem notwendig, das die Richtung des Flüssigkeitsstromes steuert (Abb. 3). Dieses besteht aus zwei Glaskügelchen, die in je einer Ausweitung der Glasröhre oberhalb und unterhalb der Abzweigung zur Pumpe liegen. Ventil und Ventilbett sind mit einem Norm - Glasschliff versehen. Ein kleiner Glasfortsatz am Ventilkügelchen sorgt für dessen Richtungsstabilität, damit bei dem ständigen Auf und Ab des Ventils immer die Glasschliffe aufeinander zu liegen kommen und eine vollständige Abdichtung erreicht wird. Die Pumpfähigkeit und das Ventilspiel führen zu einem pulsierenden Fluß des Perfusionsmediums: die Füllung der Pumpe entspricht der Diastole des Herzens, Ausstoßen dieses Füllungsvolumens der Systole. Die Frequenz wird durch die Anzahl der Kolbenbewegung pro Minute bestimmt.

Oberhalb des Ventilsystems muß das Medium ein Filter passieren, das aus einer 4 mm dicken, kreisrunden Glasfritte mit einem Durchmesser von 26 mm besteht (Porosität G 2, entsprechend einer Porenweite von $40 - 90 \mu$; Fa.

Schott, Mainz). Dieses Filter ist in ein Plexiglasgehäuse eingelassen.

Die Temperatur des Perfusionsmediums kann auf einem eingebauten Thermometer abgelesen werden. Kurz vor dem Ende des Glasröhrensystems wird der aktuelle Perfusionsdruck, dessen Mittelwert etwa 110 mm Hg beträgt, mit einem Elektromanometer MA 19 der Fa. Hellige (Freiburg i. Brsg.) gemessen. Zwei dünne PVC - Katheter stellen die Verbindung zum Rattenschädel her. Von diesem tropft das Medium aus allen bei der Präparation angeschnittenen Venen frei ab, wird in einem Trichter aufgefangen und zum Oxygenator zurückgeleitet.

Bereits in Höhe des Thermometers zweigt eine Kurzschlußverbindung zum Sammelkolben ab, in die ein Druckregulierungsmechanismus in Form eines Starlingschen Widerstandes eingebaut ist. In diesem ist die Kontinuität der Glasröhre unterbrochen. Die 2 - 3 cm lange Lücke wird von einem dünnwandigen Schlauch überbrückt, der von einem weitleumigeren, luftdichten Glasmantel umschlossen wird (Abb. 4a). Durch Erhöhung des Druckes in dieser Glaskapsel wird der Schlauch zusammengepreßt und der Kurzschluß zum Sammelkolben verschlossen. Steigt der Staudruck im System über den von außen auf die Schlauchwand wirkenden Druck, der an einem einfachen Quecksilber - Manometer abgelesen werden kann, wird die Kurzschlußverbindung freigegeben. Nun fließt soviel Perfusionsvolumen direkt in den Sammelkolben zurück, bis der Systemdruck wieder unter den im Starlingwiderstand herrschenden Druck abgefallen ist. Dieses Arbeitsprinzip sichert die Konstanz des gewählten Perfusionsdruckes.

Perfusionsapparatur II:

Diese Apparatur vereinigt zwei getrennte Perfusionssysteme in sich, die spiegelsymmetrisch zueinander angeordnet sind und synchron arbeiten (Abb. 2). Mittels eines Zweizegehahnes kann dadurch während eines Perfusionsversuches von einem System auf das andere umgeschaltet werden.

Als Vorratsgefäße für die zwei Perfusionsmedien dienen zwei Glaskolben

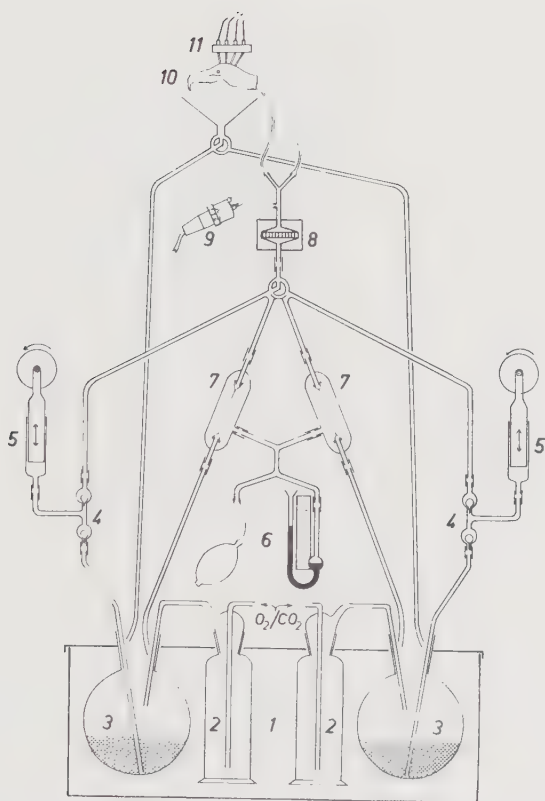


Abb. 2. Apparatur II zur Perfusion des isolierten Rattenhirns.

- 1 Wasserbad (39° C)
- 2 Waschflaschen für Carbogen mit physiologischer Kochsalz-
lösung
- 3 Vorratsgefäße für die Perfusionsmedien
- 4 u. 5 Pumpen mit Ventilen
- 6 u. 7 Starlingwiderstände mit Manometer
- 8 Filter
- 9 Druckkopf des Elektromanometers
- 10 Rattenschädel
- 11 Elektroden, die auf dem Schädeldach sitzen.

(250 ml). Diese sind nebeneinander in Kugellagern unter einem Winkel von 45° an einer Brücke befestigt. Von einem Elektromotor werden sie gemeinsam mit gleicher Geschwindigkeit um ihre Längsachse rotiert. Die Brücke wurde derart über ein Wasserbad von 39° C montiert, daß beide Kolben bis zum Ansatz des Kolbenhalses darin eintauchen. Von dem tiefsten Punkt der Kolben führt je eine Zuleitung zu den Kolbenpumpen. Diese bestehen aus zwei Glasspritzen, die nebeneinander montiert sind (Abb. 3) und synchron von einem stufenlos regulierbaren Elektromotor (Laborrührer Type RZR; Heidolph Elektro KG, Kelheim) bewegt werden. Je ein Ventilsystem (wie es bei der Perfusionsapparatur I bereits beschrieben wurde) steuert den Flüssigkeitsstrom zu einem Zweiwegehahn, dem Knotenpunkt der beiden Perfusionssysteme. Ist dieser geschlossen, fließt das Perfusionsmedium über einen Starlingwiderstand zurück in den Sammelkolben.

Wie bei Apparatur I sind ein Frittenfilter, ein Thermometer zum Ablesen der Temperatur des Perfusionsmediums sowie ein Elektromanometer zur Kontrolle des aktuellen Perfusionsdruckes eingebaut.

Je ein Starlingwiderstand für jedes Perfusionssystem hält den gewählten Perfusionsdruck konstant. Der für diese Apparatur zuerst gebaute Starlingwiderstand b (Abb. 4b) war eine Kombination von zwei Starlingwiderständen mit einer gemeinsamen Druckkapsel. Die das Medium zuleitende Glasröhre wurde von der das Medium ableitenden Glasröhre konzentrisch umschlossen. Beide Röhren endeten auf gleicher Höhe in der Druckkapsel. Ihre Öffnung wurde durch eine dünne Membran verschlossen, auf die der in der Druckkapsel vorgelegte Druck wirkte. Sollte nun das Medium von der Pumpe zurück in den Sammelkolben fließen, mußte diese Membran etwas angehoben werden, damit das Medium in den ableitenden Schenkel gelangen konnte, d. h. der Perfusionsdruck mußte dazu größer sein als der auf die Membran wirkende Druck. Dieser Starlingwiderstand b wurde später durch den Starlingwiderstand a ersetzt, der dem in Apparatur I verwendeten entspricht.

Nach Perfusion des isolierten Rattenhirns tropft das Medium frei ab und

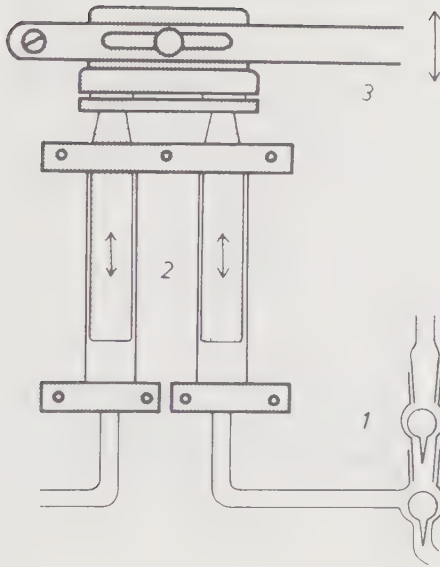


Abb. 3. Pump - und Ventilsystem der Apparatur II. 1 Ventilsystem, 2 Ganzglasspritzen als Kolbenpumpen, 3 Gestänge zur Exzenter-
scheibe.

wird in einem Trichter aufgefangen. Mittels eines Zweiwegehahnes wird es in denjenigen Sammelkolben geleitet, aus dem es stammt.

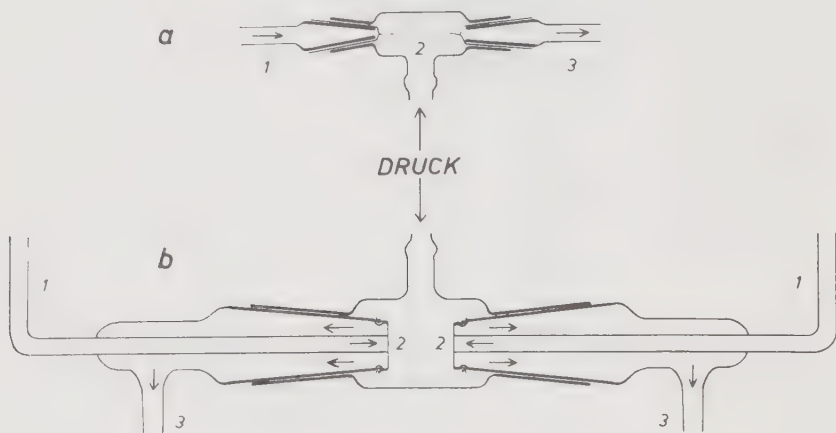


Abb. 4. a einfacher Starlingwiderstand, b kombinierter Starlingwiderstand. 1 zuleitender Schenkel, 2 Gummischlauch bzw. Gummimembran, 3 ableitender Schenkel.

Zur Oxygenierung des Perfusionsmediums wird Carbogen nach Durchperlen einer physiologischen Kochsalzlösung bei 39°C in den Sammelkolben eingeleitet. Damit führen vier Glasröhrchen in jeden Kolbenhals: die Zuleitung zum Pumpsystem, das über den Starlingwiderstand zurückfließende Medium, das nach Passage des isolierten Rattenhirns zurückgeleitete Medium und die Carbogen-Zuleitung. Bei stillstehenden Sammelkolben füllt das Perfusionsmedium etwa ein Drittel des Kolbenvolumens aus. Bei Rotation wird die Kolbenwand durch ständiges Eintauchen in das sich am tiefsten Punkt ansammelnde und durch das aus dem System zurückfließende Medium in dünner, ständig wechselnder Schicht be-

netzt. Dadurch kommt es zu schneller Äquilibration mit dem zugeleiteten Carbogen. Die rotierenden Sammelkolben erhalten damit die Funktion von Oxygenatoren.

2. Zubereitung des Perfusionsmediums:

Für einen Perfusionsversuch wurden 100 ml Perfusionsmedium angesetzt: 40 ml gewaschene Rindererythrozyten und 6 g Rinderserumalbumin (trocken, "reinst"; Behring - Werke) wurden mit Krebs-Ringer-Henseleit-Lösung, die 400 mg% Glucose enthielt, auf 100 ml aufgefüllt. Dazu wurde Rinder - Citratblut, das nicht älter als 60 Stunden war, durch Zentrifugieren vom Plasma befreit, zweimal mit 1%iger Kochsalzlösung und abschließend einmal mit Stamm I (s.u.) bei Zimmertemperatur gewaschen. 6 g Rinderserumalbumin wurden in etwas Stamm I gelöst, bevor es zu dem Erythrozytenkonzentrat gegeben wurde. Die Krebs - Henseleit - Lösung (KREBS u. HENSELEIT, 1932) wurde in zwei Stämmen angesetzt, von denen Stamm II längere Zeit beständig ist.

<u>Stamm I:</u>	Glucose	0,4 g	
	NaHCO_3 - Lösung	16,0 ml	(1,3 %)
	Stamm II ad	100,0 ml	

<u>Stamm II:</u>	NaCl	(0,9 %)	0,154 M	100 Teile
	KCl	(1,15 %)	0,154 M	4 Teile
	CaCl_2	(1,22 %)	0,11 M	3 Teile
	KH_2PO_4	(2,11 %)	0,154 M	1 Teil
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	(3,82 %)	0,154 M	1 Teil
				109 Teile

Der Hämatokrit der Perfusionsmedien wurde mit einer Mikrohämatokrit - Zentrifuge (Haereus - Christ, Osterode) bestimmt und betrug 29 - 31 %.

3. P₀₂ - Messung im Perfusionsmedium:

Die Sauerstoffspannung P₀₂ des Perfusionsmediums wurde polarographisch mit einem BECKMAN - Physiological Gas Analyzer Modell 160 im Durchfluß gemessen.

Die Eichung wurde mit 37° C warmen, wäßrigen Lösungen mit bekannter Sauerstoffspannung durchgeführt. Zur Nulleinstellung wurde destilliertes Wasser mit nachgereinigtem Stickstoff, dessen restlichen, minimalen Sauerstoffgehalt man vernachlässigen kann, äquilibriert. Als zweite Eichlösung diente destilliertes Wasser nach Äquilibration mit Raumluft, deren Sauerstoffgehalt hinreichend konstant 21 Vol. % beträgt. Hieraus berechnet sich die Sauerstoffspannung in mm Hg wie folgt:

$$P_{O_2} \text{ in mm Hg} = \frac{\text{Vol. \% } O_2 \times (\text{Luftdruck in mm Hg} - \text{Wasserdampfspannung bei } 37^\circ \text{ C})}{100}$$

$$\text{z.B. } P_{O_2} = \frac{21 \text{ Vol. \%} \times (750 - 47)}{100} = 148 \text{ mm Hg}$$

4. Bestimmung der durch die Perfusionsapparatur bedingten Hämolyse:

Das Perfusionsmedium zirkulierte 5 Stunden in der Perfusionsapparatur bei einem Systemdruck von 100 mm Hg. Alle 30 Minuten wurden aus dem Sammelkolben je 1 ml Medium mit einer Pipette entnommen. Anschließend wurden alle Fraktionen in einer Tischzentrifuge (Haereus - Christ, Osterode) bei 2000 Umdrehungen pro Minute 8 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert und nochmals zentrifugiert. In dem erythrozytenfreien Überstand wurde die Hämoglobinkonzentration mit einer Benzidin - Mikromethode nach WU (1923) modifi-

ziert nach CROSBY u. FURTH (1956) bestimmt, mit der Konzentrationen über 4 mg% Hämoglobin verläßlich erfaßt werden können. Zu 1 ml 1%iger Benzidin - Lösung, gelöst in 90%iger Essigsäure, wurden 0,02 ml der zu untersuchenden Fraktion gegeben. Nach Hinzufügen von 1 ml 1%igem Wasserstoffperoxid wurde die Lösung sofort gemischt und 20 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach Verdünnen mit 10 ml 10%iger Essigsäure wurde jeder Ansatz nochmals gut gemischt. Der fertige Reaktionsansatz wurde 1 + 10 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, um bei der Photometrie in einen günstigen Extinktionsbereich zu kommen. In dieser verdünnten Lösung wurde die optische Dichte mit einem Beckman - Spectrophotometer DB 1402 bei einer Wellenlänge von 515 nm gemessen.

Die verwendeten Reagentien (Merck, Darmstadt) wurden täglich frisch aus folgenden Stamm - Reagentien mit bidestilliertem Wasser angesetzt: Benzidin p. a., Perhydrol p. a. 30 %, Eisessig p. a. 96 %.

Herstellung eines Hämoglobin - Standards und einer Standard - Eichkurve:

100 ml gewaschene Rindererythrozyten wurden durch mehrfaches Einfrieren und Auftauen hämolysiert. Nach Abzentrifugieren der Erythrozyten - Schatten wurde in dem erythrozytenfreien Überstand Hämoglobin als Hämiglobincyanid gemessen (Cyanhämiglobin - Reagenz nach Drabkin der Fa. Asid, München). Nach Verdünnen mit Aqua dest. wurde diese Standard - Hämoglobin - Lösung auf mehrere Reagenzgläser aufgeteilt und eingefroren. An verschiedenen Tagen wurden davon einzelne Fraktionen aufgetaut. Nach erneuter Doppelbestimmung der Hämoglobinkonzentration als Hämiglobincyanid wurde aus der Hämoglobin - Standardlösung eine Verdünnungsreihe angesetzt (HANKS et al., 1960). Die mit der Benzidin - Mikromethode erhaltenen Extinktionen wurden den entsprechenden Hämoglobinkonzentrationen, berechnet aus dem Hämoglobingehalt der Standardlösung und der Verdünnung, zugeordnet.

5. Präparation des isoliert perfundierten Rattenhirns:

Zur Narkose der männlichen Sprague - Dawley - Ratten (200 - 300 g) wurden 1,2 g/kg Urethan i. p. injiziert. Auf einem Präparationstisch (Instituts-werkstatt) wurde der Rattenschädel durch zwei Stifte, die beidseits in den äußer-en knöchernen Gehörgang geschoben wurden, sowie einer Oberkieferhalterung besonders stabil fixiert, um ein Abrutschen der EEG - Elektroden zu vermeiden.

Von einem medianen Halsschnitt aus erfolgte die Tracheotomie mit nachfol-gender Intubation. Nach Freilegung der A. carotis communis und der Carotis - Gabel wurde die A. carotis externa ligiert. Dabei mußte darauf geachtet werden, daß die A. occipitalis, die oft dicht an der Carotis - Gabelung entspringt, von der Ligatur mit erfaßt wurde. Sicherheitshalber wurde deshalb direkt oberhalb der Carotis - Gabelung eine zweite Ligatur um die A. carotis externa gelegt.

Nach Injektion von $2,5 \cdot 10^{-2}$ g/kg Heparin in eine Vena jugularis ex-terna, wurde beidseits die A. pterygopalatina unterbunden. Sie entspringt bei der Ratte aus der A. carotis interna, kurz bevor diese in den knöchernen Schä-del eintritt (GREENE, 1935). Anschließend wurden die Ligaturen zum Einbinden der Perfusionskatheter vorbereitet. Dann wurde die A. carotis communis zuerst kopfwärts mit einer Klemme abgeklemt und herzwärts ligiert, um nach Einschnei-den der Gefäßwand den mit Perfusionsmedium gefüllten Perfusionskatheter einzu-führen. Dieser wurde nach Abnahme der Klemme möglichst weit in die A. caro-tis interna vorgeschoben. Abb. 1 zeigt eine schematische Darstellung der Ge-fäße mit den eingebundenen Kathetern. Nach dem Beginn der Perfusion wurden die Halsmuskulatur und beide Vv. jugulares ext. durchtrennt. In Höhe des 3. - 4. Halswirbels wurde eine kräftige Ligatur gelegt. Direkt unterhalb davon wurde die Halswirbelsäule durchschnitten und damit der Rumpf vom fixierten Rattenschä-del getrennt. Das fertige Präparat bestand aus dem Schädel (ohne Unterkiefer) mit Inhalt, den 3 - 4 oberen Halswirbeln sowie Muskelresten. Das Perfusionsme-dium konnte durch alle bei der Präparation angeschnittenen Venen frei abfließen.

6. Elektroencephalogramm - Ableitung:

Von jeder Hemisphäre des isolierten Rattenhirns wurde ein Elektroencephalogramm (EEG) abgeleitet. Nach Freilegung des Schädeldaches wurden frontal und parietal je zwei bipolare Elektroden befestigt. Vertiefungen, die vorher mit einem Zahnbohrer in den Knochen gebohrt wurden, verhinderten ein Abrutschen der Elektrodenspitzen. Die abgeleiteten Potentiale wurden mit einer EEG - Registriereinheit HE 17 (EEG - Preamplifier der Fa. Hellige, mit vier EEG - Einschubverstärkern und vier 30 mm Schreibwerken) aufgezeichnet.

ERGEBNISSE

1. Messung der Sauerstoffspannung im Perfusionsmedium:

Das Medium rezirkulierte in jeder Apparatur 5 Stunden im geschlossenen System unter Carbogenbegasung. In je 5 Versuchen wurde die Sauerstoffspannung (P_{O_2}) kontinuierlich gemessen und in mm Hg ausgedrückt (Tab. 1 u. 2). Der Anstieg der Sauerstoffspannung in Abhängigkeit von der Zeitdauer der Carbogenbegasung als Ausdruck der Oxygenierungsleistung der zwei Perfusionsapparaturen wurde in Abb. 5 dargestellt. Innerhalb von 10 Minuten wurde in beiden Apparaturen ein Plateau erreicht, das einem P_{O_2} von etwa 500 mm Hg entspricht. Dabei erscheint die geringe Differenz der P_{O_2} - Werte für die beiden Apparaturen unwesentlich, da bereits bei einer Sauerstoffspannung von 100 mm Hg das Hämoglobin zu 98 % gesättigt ist.

2. Bestimmung der durch die Perfusionsapparaturen bedingten Hämolyse:

Das Medium rezirkulierte in jeder Apparatur 5 Stunden im geschlossenen System unter Carbogenbegasung. Alle 30 Minuten wurde 1 ml abgenommen und

in dessen erythrozytenfreiem Überstand die Hämoglobinkonzentration in mg% bestimmt. Für Apparat I und Apparat II wurden mit dem Starlingwiderstand a je 6 Versuche gemacht, weitere 6 Versuche mit Apparat II unter Verwendung von Starlingwiderstand b (Tab. 3 - 5). Nach 5 Stunden Rezirkulation in der Apparat I betrug die Hämolyse, gemessen als Hämoglobinkonzentration im erythrozytenfreien Überstand, 2 - 3 % des Gesamthämoglobins des Mediums. Die entsprechenden Werte für Apparat II mit Starlingwiderstand b waren etwa dreimal so groß. Für diese stärkere Hämolyse wurde der verwendete Starlingwiderstand verantwortlich gemacht, da nach Austausch gegen den Starlingwiderstand a die Hämolyse nicht größer war als in Apparat I (Abb. 6).

3. Perfusion isolierter Rattenhirne:

In zahlreichen Perfusionsversuchen konnte die Eignung beider Apparaturen zur Perfusion eines isolierten Rattenhirns nachgewiesen werden. Als Parameter für die Überlebenszeit wurde das vom Rattenschädeldach bipolar abgeleitete Elektroencephalogramm (EEG) verwendet. Abb. 7 stellt den EEG - Verlauf eines Perfusionsversuches über 5 Stunden mit der Perfusionsapparat I dar. Die beiden oberen Kurven wurden von der narkotisierten Ratte vor und nach der Präparation aufgezeichnet, die weiteren Kurven in Abständen von jeweils 60 Minuten.

Da die EEG - Ableitungen häufig von Wechselstrompotentialen überlagert wurden, konnte es besonders bei geringer EEG - Aktivität schwierig werden, diese von Artefakten zu unterscheiden. Zur Differenzierung wurde die Perfusion für 30 Sekunden unterbrochen. In Abb. 8 ist solch ein Abstellversuch dargestellt. Nach Unterbrechung der Perfusion wird die EEG - Aktivität allmählich kleiner, um sich schließlich der Nulllinie anzunähern. Wird die Perfusion nach 30 Sekunden wieder eingeschaltet, dauert es mehrere Sekunden bis das EEG die ursprüngliche Amplitude erreicht hat. Wären die Ausschläge in der vor Unterbrechung der Perfusion aufgezeichneten Kurve auf Artefakte, z. B. Wechselstromüberlagerungen, zurückzuführen gewesen, dann hätten diese Artefakte momentan mit Abstellen der Perfusion verschwin-

den und beim erneuten Abstellen der Perfusion augenblicklich wieder nachweisbar oder aber die ganze Zeit unverändert vorhanden sein müssen. Denn es wäre nicht zu erklären, wie sich Artefakte beim Abstellversuch langsam vermindern und dann nach gewisser Zeit wieder kontinuierlich bis zu ihrer Ausgangsgröße aufbauen sollten.

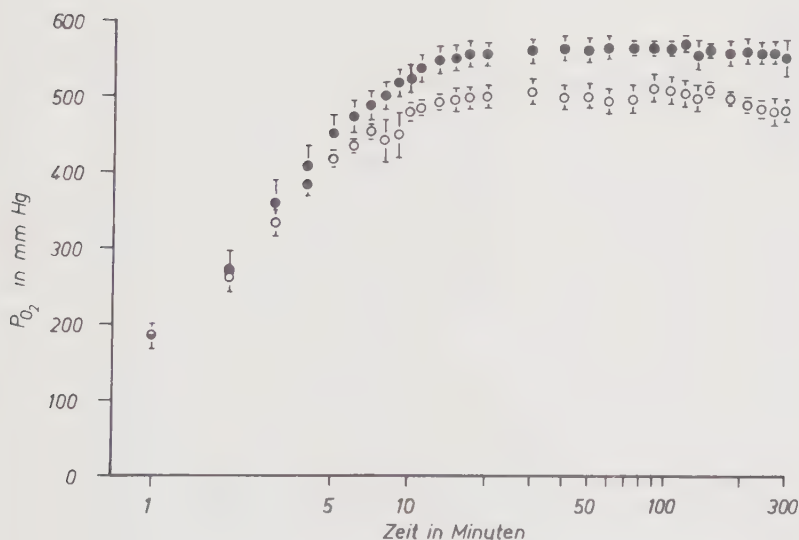


Abb. 5. Messung der Sauerstoffspannung im Perfusionsmedium. Abhängigkeit der Sauerstoffspannung (P_{O_2} in mm Hg, Ordinate) von der Rezirkulationszeit (in Minuten, Abszisse). Das frisch hergestellte, nicht äquilibrierte Medium rezirkulierte unter Carbogenbegasung 5 Stunden in der Perfusionsapparatur. Der Anstieg der Sauerstoffspannung wurde kontinuierlich in mm Hg gemessen. Mit jeder der beiden Apparaturen wurden 5 Versuche gemacht. Die angegebenen Punkte stellen die Mittelwerte und die Standardabweichungen der Mittelwerte dar. Vergl. Tab. 1 u. 2.
 o—o Perfusionsapparat I, ●—● Perfusionsapparat II.

Tabelle 1. Messung der Sauerstoffspannung in Apparatur I. Das frisch hergestellte, nicht äquilibrierte Perfusionsmedium rezirkulierte unter Carbogenbegasung 5 Stunden in der Perfusionsapparatur. Dabei wurde der Anstieg der Sauerstoffspannung in mm Hg gemessen (angegeben als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$; n = 5).

Rezirkulations - zeit in Minuten	Versuch Nr.					$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$
1	2	3	4	5		
1	140	220	190	185	190	185 ± 13
2	230	315	290	220	245	260 ± 18
3	300	390	350	315	310	333 ± 17
4	350	430	400	380	365	385 ± 14
5	385	450	430	420	400	417 ± 11
6	415	430	450	450	440	437 ± 7
7	425	440	470	475	460	454 ± 9
8	430	340	475	490	480	443 ± 28
9	440	340	480	500	490	450 ± 29
10	445	475	480	505	500	481 ± 11
11	450	485	485	510	505	487 ± 11
13	455	505	490	510	510	494 ± 10
15	455	515	490	515	515	498 ± 12
17	455	520	490	520	520	501 ± 13
20	460	525	490	520	520	503 ± 12
30	465	530	490	520	535	508 ± 13
40	465	520	480	510	535	502 ± 13
50	465	520	480	510	535	502 ± 13
60	465	520	470	510	525	498 ± 13
75	465	520	465	510	540	500 ± 15
90	465	520	490	560	540	515 ± 17
105	465	530	480	540	540	511 ± 16
120	460	530	490	520	540	508 ± 15
135	450	520	500	520	520	502 ± 14
150	515	520	500	520	510	513 ± 4
180	515	520	490	500	480	501 ± 7
210	510	530	470	480	480	494 ± 11
240	510	520	470	470	470	488 ± 11
270	500	520	445	510	450	485 ± 16
300	500	510	440	510	480	488 ± 13

Tabelle 2. Messung der Sauerstoffspannung in Apparatur II. Das frisch hergestellte, nicht äquilibrierte Perfusionsmedium rezirkulierte unter Carbogenbegasung 5 Stunden in der Perfusionsapparatur. Dabei wurde der Anstieg der Sauerstoffspannung in mm Hg gemessen (angegeben als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$; n = 5).

Rezirkulations - zeit in Minuten	Versuch Nr.					$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$
1	2	3	4	5		
1	190	170	220	130	210	184 ± 16
2	230	190	350	250	320	268 ± 29
3	290	300	430	350	430	360 ± 30
4	365	360	470	380	470	409 ± 25
5	405	400	490	460	510	453 ± 22
6	435	430	510	470	530	475 ± 20
7	455	450	515	480	550	490 ± 19
8	470	470	515	500	560	503 ± 17
9	485	485	550	520	560	520 ± 16
10	495	495	565	500	570	525 ± 17
11	500	505	570	550	575	540 ± 16
13	515	515	580	560	585	551 ± 15
15	520	525	580	550	590	553 ± 14
17	520	530	585	570	590	559 ± 14
20	525	540	585	550	595	559 ± 13
30	530	540	580	580	590	564 ± 12
40	535	540	600	570	590	567 ± 13
50	540	540	605	550	590	565 ± 14
60	550	540	600	560	595	569 ± 12
75	580	540	570	560	590	568 ± 9
90	580	545	570	560	590	569 ± 8
105	575	545	590	550	580	568 ± 9
120	570	545	590	580	590	575 ± 8
135	570	510	600	530	590	560 ± 17
150	570	550	570	550	590	566 ± 7
180	570	560	595	520	570	563 ± 12
210	570	570	600	510	570	564 ± 15
240	565	570	600	520	560	563 ± 13
270	570	570	600	520	550	562 ± 13
300	570	570	590	470	580	556 ± 22

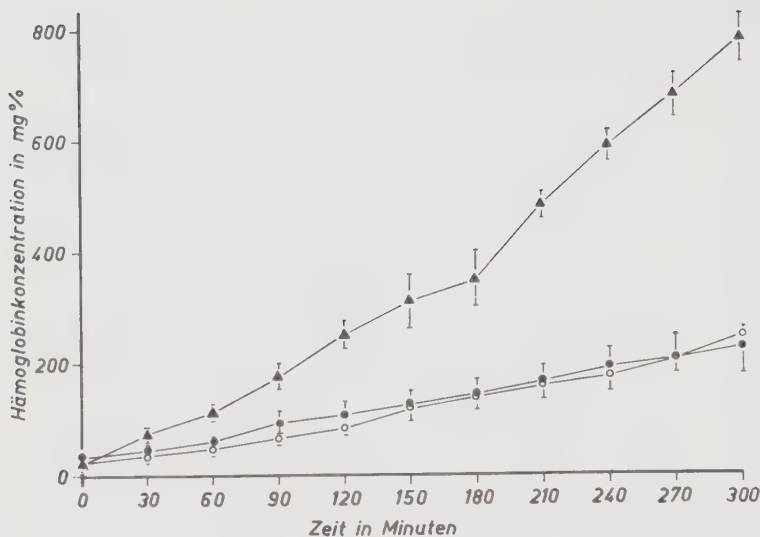


Abb. 6. Hämolyse des Perfusionsmediums. Abhängigkeit der Hämoglobinkonzentration im erythrozytenfreien Überstand (in mg%, Ordinate) von der Rezirkulationszeit (in Minuten, Abszisse). Das Perfusionsmedium rezirkulierte 5 Stunden in der Perfusionsapparatur unter Carbogenbegasung bei einem Systemdruck von 100 mm Hg. Alle 30 Minuten wurde aus dem Sammelkolben 1 ml Medium entnommen. In dem erythrozytenfreien Überstand dieser Fraktionen wurde der Hämoglobingehalt bestimmt. Jeder Kurve liegen 6 Versuche zugrunde. Die einzelnen Punkte der Kurven stellen die Mittelwerte und die Standardabweichungen der Mittelwerte dar. Vergl. Tab. 3-5.
 ●—● Apparatur I mit Starlingwiderstand a, o—o Apparatur II mit Starlingwiderstand a, ▲—▲ Apparatur II mit Starlingwiderstand b.

Tabelle 3. Hämolyse des Perfusionsmediums in der Perfusionsapparatur I. Das Perfusionsmedium rezirkulierte 5 Stunden unter Carbogenbegasung und einem Systemdruck von 100 mm Hg, ohne Perfusion eines isolierten Rattenhirns. Alle 30 Minuten wurde 1 ml aus dem Sammelkolben entnommen. Die Hämoglobinkonzentration im erythrozytenfreien Überstand der einzelnen Fraktionen wurde in mg% angegeben.

Rezirkulations - zeit in Minuten	Versuch - Nr.						$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$
	1	2	3	4	5	6	
0	45	40	25	28	30	28	33 ± 3
30	45	65	32	44	36	52	46 ± 5
60	37	76	50	36	90	75	61 ± 9
90	66	89	40	65	192	102	92 ± 22
120	70	112	53	82	198	130	108 ± 21
150	80	136	57	101	222	165	127 ± 25
180	97	156	72	113	236	186	143 ± 25
210	99	193	85	155	255	196	164 ± 26
240	116	214	97	146	310	255	190 ± 34
270	150	258	102	132	310	276	205 ± 36
300	165	265	115	127	362	315	225 ± 42

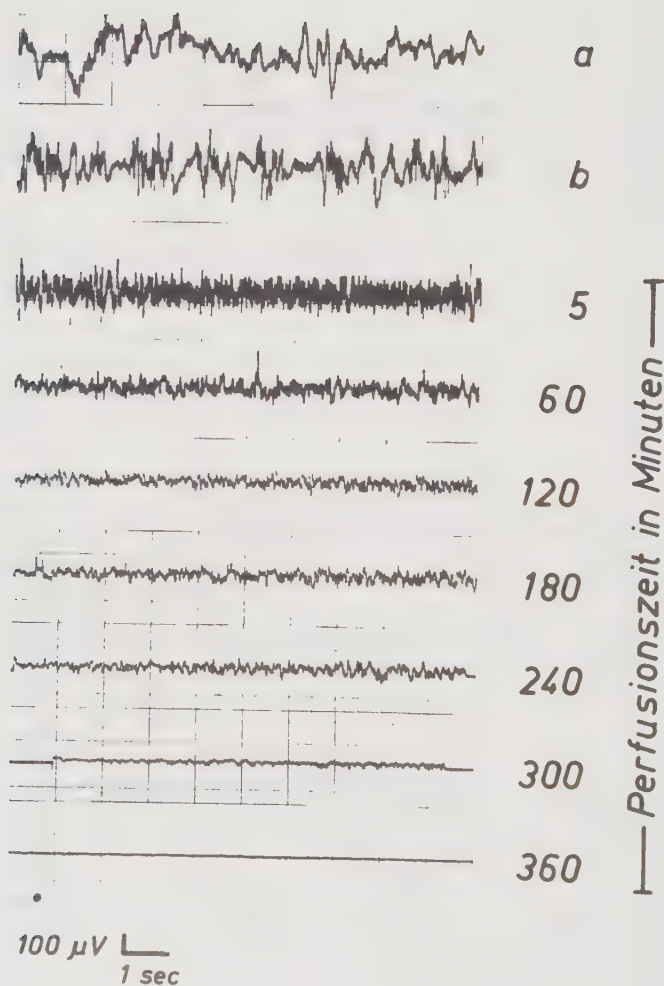
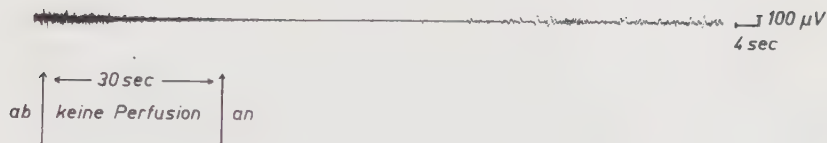


Abb. 7. Elektroencephalogramm (EEG) eines Perfusionsversuches über 5 Stunden mit der Perfusionsapparatur I. EEG der narkotisierten Ratte vor (a) und nach der Präparation (b). Für die übrigen EEG-Kurven ist die nach der Dekapitation vergangene Perfusionszeit in Minuten angegeben.

EEG nach 9h Perfusion



EEG nach 1h Perfusion

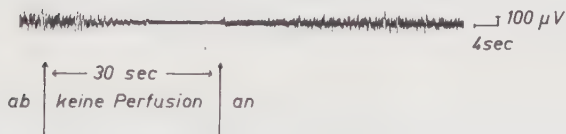


Abb. 8. Abstellversuch im EEG. Zur Differenzierung von kleinen EEG - Potentialen und Artefakten wurde die Perfusion des isolierten Rattenhirns für 30 Sekunden unterbrochen: das EEG flachte in wenigen Sekunden bis zur Nulllinie ab, um kurz nach dem Einschalten der Perfusion nahezu seine ursprüngliche Form wieder zu erreichen. Die obere EEG - Kurve zeigt einen solchen Abstellversuch nach 9 Stunden, die untere Kurve dazu im Vergleich einen nach 1 Stunde.

DISKUSSION

Die erfolgreiche Perfusion eines isolierten Rattenhirns hängt von mehreren Faktoren ab: Präparationstechnik, individuelle Unterschiede in der Gefäßversorgung des Rattenhirns, Perfusionsmedium, Perfusionsapparatur und Perfusionstechnik.

Die Präparation des isoliert perfundierten Rattenhirns wurde unverändert nach ANDJUS et al. (1967) durchgeführt. Dabei erwies sich die Gefäßanatomie des Rattenhirns als vorteilhaft. Während der Zeitspanne, in der beide Carotiden nacheinander zum Einbinden der Perfusionskatheter abgeklemmt wurden, erfolgte die Blutversorgung des Gehirns über die beiden Aa. vertebrales. Dabei kommen beträchtliche Kaliberschwankungen der für die Gehirnversorgung zuständigen Gefäße vor. Besonders variabel ist das Verhältnis zwischen den Gefäßquerschnitten der Aa. vertebrales und den Carotiden (GREENE, 1935).

Heparin wurde erst kurz vor Unterbindung der Aa. pterygopalatinae in eine Vena jugularis externa injiziert. Bei späterer Applikation des Heparin war während der Perfusion der Durchfluß des Mediums pro Minute merklich vermindert oder es kam gelegentlich zur plötzlichen Verschlechterung der EEG - Aktivität, die an ein emboliformes Geschehen denken ließ. Wurde das Heparin bereits zu Beginn der Präparation injiziert, kam es wegen verstärkter diffuser Blutung zu größeren Blutverlusten und damit zur Gefahr des Volumenmangelschocks.

Das Perfusionsmedium wurde von den einzelnen Untersuchern am häufigsten variiert. Die Veränderungen erfolgten dabei oft ohne nähere Begründung und fast immer ohne Vergleichsmessungen (SCHIMASSEK, 1968). Bei meinen Versuchen habe ich ein künstliches Medium verwandt. Es setzte sich aus drei Grundkomponenten zusammen: Albumin als onkotisch wirksamer Anteil, Krebs - Henseleit - Lösung als osmotisch wirksamer Anteil und gewaschene Rindererythrozyten. Obwohl bereits synthetische Substanzen als Sauerstoffträger verwandt wurden (SLOVITER u. KAMIMOTO, 1967),

sind Erythrozyten die idealen Sauerstoffträger geblieben. Rindererythrozyten stehen im Gegensatz zu homologem Blut, dessen immunologische Eigenschaften meist unberücksichtigt bleiben, in großen Mengen zur Verfügung (GALLAGHER, 1954; EMMENEGGER, 1962). Da Rindererythrozyten kleiner sind als Rattenerythrozyten können sie die Kapillaren des perfundierten Gewebes besonders gut passieren.

Präparationstechnik und Perfusionsmedium wurden nicht variiert, um die Wirkung von Änderungen der Perfusionsapparatur beurteilen zu können. Als Parameter diente das EEG, das frontal und parietal vom Rattenschädeldach mit bipolaren Elektroden abgeleitet wurde. Die spontane elektrische Aktivität des isoliert perfundierten Rattenhirns ist ein sehr empfindliches Kriterium (KLEMM, 1969). Sie ist nicht nur Ausdruck der Aktivität einzelner Zellen sondern des Zusammenspiels höherer Gehirnzellgruppen, die besonders empfindlich auf ungeeignete Perfusionsbedingungen reagieren. Beläßt man Augen und Augenmuskulatur am Rattenschädel, so ist der Cornealreflex noch nachweisbar, wenn im EEG bereits keine Aktivität mehr erkennbar ist.

Die Perfusionsapparaturen bestehen weitgehend aus Glas. Gummischläuche wurden möglichst vermieden, nachdem sich gezeigt hat, daß lipophile Substanzen, wie z. B. Phenothiazine, an Gummi adsorbiert werden (KRIEGLSTEIN, unveröffentlichte Befunde). Am Gehirn wirksame Substanzen sind aber lipophil. Aus dem gleichen Grunde wurden auch Kolbenpumpen in Form von Ganzglasspritzen anstelle der üblichen Rollenpumpen verwandt. Latex - oder Siliconschlauch wurde nur für Verbindungsstücke benutzt, wobei die zu verbindenden Röhrchen Glas auf Glas stießen.

Nach jedem Perfusionsversuch wurde die Apparatur gründlich gereinigt (meist in Chromschwefelsäure) und mit neuen Gummischlauch - Verbindungsstücken und Kunststoff - Kathetern aufgebaut, um das mikrobielle Wachstum möglichst gering zu halten.

Die mit der Perfusionsapparatur I erreichten Perfusionszeiten konnten durch Filtrierung des Mediums kurz vor Eintritt in das Rattenhirn wesentlich verlängert werden

Nach Versuchen mit Dacron - Gewebe (THOMPSON, 1968) und feinmaschigen Metallgittern (EMMENEGGER, 1963) wurde dazu eine feinporige Glasfritte verwandt. GEIGER (1947) suchte den während eines Perfusionsversuches ansteigenden Perfusionsdruck mit vasokonstriktischen Substanzen, freigesetzt aus zerstörten Erythrozyten, zu erklären. Denkbar sind auch Mikroembolien kleiner Gehirnkapillaren, verursacht durch Erythrozyten - Aggregate. Werden diese herausgefiltert, dann steigt der Perfusionsdruck nur gering an (SWANK, 1962; ALLWEIS et al., 1967).

Trotz der zufriedenstellenden Perfusionsergebnisse wies die Perfusionsapparatur I einige Nachteile auf. An mehreren Stellen, die nicht ständig mit Medium benetzt wurden, bildete sich Kondenswasser. So z. B. in der Kolbenpumpe und besonders am oberen Ende des Kugelhühlers, so daß eine verstärkte Hämolyse des Perfusats befürchtet werden mußte. Das Medium neigte dazu, im Oxygenator zu schäumen, was aber nach dem Auftreten immer leicht beherrscht werden konnte. Vor allem mußte darauf geachtet werden, daß es luftblasenfrei und gleichmäßig durch den rotierenden Trichterauslauf auf die Wandung des Kugelhühlers verteilt wurde. Auf ein schaumhemmendes Mittel konnte verzichtet werden. Obwohl das Medium immer vom tiefsten Punkt des ruhenden Vorratsgefäßes abgepumpt wurde, mußte mit einer Entmischung des Mediums gerechnet werden (YOUNG et al., 1955). Letztlich war die Apparatur relativ unförmig und wies einen Totraum von etwa 30 ml auf. Die langen Glasröhrenverbindungen bedingten auch einen Temperaturabfall des Perfusionsmediums von 39° C im Vorratsgefäß bis auf 34 - 35° C beim Eintritt ins Gehirn.

Es wurde deshalb eine zweite Perfusionsapparatur gebaut, die wesentlich kleinere Abmessungen aufweist. Ihr hauptsächlichster Vorteil besteht darin, daß auf kleinem Raum zwei Perfusionssysteme angeordnet sind. Mittels eines Zweizegehahnes kann ohne wesentliche Unterbrechung der Perfusion von einem Perfusionssystem auf das andere umgeschaltet werden. Dabei ist von Bedeutung, daß beide Teilsysteme von denselben Motoren angetrieben werden und deshalb vollkommen synchron arbeiten. An den beiden miteinander verbundenen Starlingschen Widerständen herrschen immer gleiche Druckverhältnisse.

Diese Anordnung schafft interessante Versuchsbedingungen. Es kann ein Medium gegen ein zweites, das eine andere Zusammensetzung aufweist, ohne Schwierigkeiten ausgetauscht werden. Dabei ist beachtenswert, daß außer der Zusammensetzung des Mediums alle anderen Größen konstant gehalten werden.

Insgesamt jedoch konnten, gemessen an der EEG - Aktivität, mit der Apparatur I längere Überlebenszeiten isoliert perfundierter Rattenhirne erreicht werden als mit der Apparatur II. Die Ursache liegt vermutlich in den anders gearteten Druckverhältnissen. Da die Apparatur II kaum Schlauchverbindungen aufweist, ist die Dämpfung der pulsformigen Druckwelle kleiner und damit die Amplitude des Druckablaufs größer als bei Apparatur I. Die Verkleinerung der Amplitude durch Einbau eines Windkessels in Form eines dünnwandigen, leicht dehnbaren, blind endenden Schlauches brachte keine Verbesserung der Perfusionszeiten. Obwohl die Vorratskolben gleichzeitig als Oxygenatoren dienten, konnte das Totraumvolumen gegenüber der Apparatur I nicht wesentlich verkleinert werden.

Die Oxygenierung der Perfusionsmedien war in beiden Apparaturen zufriedenstellend. Das Plateau der Sauerstoffspannung, etwa 500 mm Hg, wurde innerhalb von 10 Minuten erreicht. Da das Medium vor Perfusionsbeginn etwa 1 Stunde rezirkulierte, war diese Zeitspanne unwesentlich.

Die Messung der durch die Perfusionsapparaturen bedingten Hämolyse ergab überraschenderweise, daß der für die Apparatur II zuerst gebaute, kombinierte Starlingwiderstand b wesentlich zur Hämolyse des Perfusats beitrug. Sie war unter diesen Bedingungen mehr als dreimal so groß als in Apparatur I. Nach Austausch gegen einen Starlingwiderstand a, wie er in Apparatur I verwandt wurde, blieb der Hämoglobingehalt im erythrozytenfreien Überstand bei den Versuchen unter 2-3 % des Gesamthämoglobins im Perfusionsmedium.

Insgesamt konnten von isolierten Rattenhirnen, die mit der Apparatur I perfundiert wurden, bis zu 10 Stunden EEG - Potentiale abgeleitet werden. Diese Perfusionszeiten liegen deutlich über denen, die bis jetzt mit der Apparatur II erreicht werden konnten.

ZUSAMMENFASSUNG

Zur Perfusion eines isolierten Rattenhirns nach ANDJUS et al., bestehend aus dem Schädel (ohne Unterkiefer) mit Inhalt und Muskelresten sowie den oberen 3 - 4 Halswirbeln, wurde nach Literaturangaben eine Perfusionsapparatur entwickelt.

Die in zahlreichen Perfusionsversuchen gesammelte Erfahrung schlug sich im Bau einer zweiten Perfusionsapparatur nieder. Diese hatte wesentlich kleinere Abmessungen und ermöglichte vor allem durch zwei getrennte Perfusionssysteme den Wechsel von einem Perfusionsmedium zu einem anderen ohne wesentliche Unterbrechung der Perfusion. Nach Austausch des Starlingwiderstandes in Apparatur II gegen einen ähnlichen, wie er bereits in Apparatur I verwendet wurde, ergaben sich keine wesentlichen Unterschiede in bezug auf Hämolyse und Oxygenierungsleistung.

Beide Apparaturen waren dazu geeignet, ein isoliert perfundiertes Rattenhirn über Stunden am Leben zu erhalten. Als Kriterium wurde das vom Rattenschädel-dach bipolar abgeleitete Elektroencephalogramm verwendet. Insgesamt konnten in Perfusionsversuchen mit der Apparatur I längere Überlebenszeiten (bis zu 10 Stunden) erreicht werden.

LITERATURVERZEICHNIS

- ALLWEIS, C., ABELES, M., MAGNES, J.: Perfusion of cat brain with simplified blood after filtration through glass wool. *Amer. J. Physiol.* 213, 83 (1967).
- ANDJUS, R. K., SUHARA, K., SLOVITER, H. A.: An isolated, perfused rat brain preparation, its spontaneous and stimulated activity. *J. Appl. Physiol.* 22, 1033 (1967).
- CHUTE, A. L., SMYTH, D. H.: Metabolism of the isolated cat's brain. *Quart. J. Exper. Physiol.* 29, 379 (1939).
- CROSBY, W. H., FURTH, F. W.: A modification of the benzidine method for measurement of hemoglobin in plasma and urine. *Blood* 11, 380 (1956).
- EMMENEGGER, H., TAESCHLER, M., CERLETTI, A.: Ein isoliert durchströmtes, arbeitendes Herzpräparat der Katze. *Helvet. physiol. pharmacol. acta* 20, 213 (1962).
- EMMENEGGER, H., TAESCHLER, M., CERLETTI, A.: Neue Möglichkeit der isplierten Hirndurchströmung. *Helvet. physiol. pharmacol. acta* 21, 239 (1963).
- GALLAGHER, D. J. A.: A medium for perfusion of innervated blood vessels. *Brit. J. Pharmacol.* 9, 129 (1954).
- GEIGER, A., MAGNES, J.: The isolation of the cerebral circulation and the perfusion of the brain in the living cat. *Amer. J. Physiol.* 149, 517 (1947).
- GEIGER, A.: Technique of brain perfusion in situ. *Meth. Med. Res.* 9, 248 (1961).

- GILBOE, D. D., COTANCH, W. W., GLOVER, M. B.: Isolation and mechanical maintenance of the dog brain. *Nature* 206, 94 (1965).
- GREENE, E. C.: Anatomy of the rat, p. 186. New York: Hafner 1935.
- HANKS, G. E., CASSELL, M., M., RAY, R. N., CHAPLIN, H.: Further modification of the benzidine method for measurement of hemoglobin in plasma. *J. Laborat. Clin. Med.* 56, 486 (1960).
- KLEMM, W. R.: Animal Electroencephalography, p. 232. New York - London: Academic Press 1969.
- KREBS, K. H., HENSELEIT, K.: Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper. *Hoppe - Seyler's Zschr. physiol. Chem.* 210, 33 (1932).
- LONG, J. A., LYONS, W. R.: A small perfusion apparatus for the study of surviving isolated organs. *J. Laborat. Clin. Med.* 44, 614 (1954).
- SCHIMASSEK, H., in: Stoffwechsel der isoliert perfundierten Leber (Hrsg. W. Staib und H. Scholz), S. 1 - 10. Berlin - Heidelberg - New York: Springer 1968.
- SLOVITER, H. A., KAMIMOTO, T.: Erythrocyte substitute for perfusion of brain. *Nature* 216, 458 (1967).
- SWANK, R. L., HIRSCH, H., ISSELHAND, W.: Continuous filtration of blood through pyrex glass wool filters. *Bibliotheca Anat.* 4, 62 (1962).
- THOMPSON, A. M., ROBERTSON, R. C., BAUER, T. A.: A rat head - perfusion technique developed for the study of brain uptake of materials. *J. Appl. Physiol.* 24, 407 (1968).
- WHITE, R. J., ALBIN, M. S., VERDURA, J.: Preservation of viability in the isolated monkey brain utilizing a mechanical extracorporeal circulation. *Nature* 202, 1082 (1964).

WU, H.: Studies on hemoglobin; ultra - micromethod for determination of hemoglobin as peroxidase. J. Biochem. 2, 189 (1923).

YOUNG, K., PRUDDEN, J. F., STIRMAN, J. A.: A perfusion technique for the study of liver metabolism. J. Laborat. Clin. Med. 46, 155 (1955).

LEBENS LAUF

Am 20. Februar 1943 wurde ich, Waldemar Urban, als zweites Kind des Fleischbeschauers Eduard Urban und seiner Ehefrau Wanda, geb. Rahn, in Spatenfelde, Kreis Kalisch (Polen) geboren. 1945 flüchteten meine Eltern nach Groß Ilsede (Niedersachsen). Nach dem Besuch der dortigen Volksschule war ich Schüler des Realgymnasiums der Kreisstadt Peine. 1958 zogen wir nach Wiesbaden um, wo ich im März 1962 am Gutenberg - Gymnasium das Abitur ablegte.

Mein Medizinstudium begann ich im Sommersemester 1962 an der Johannes Gutenberg - Universität in Mainz. Im April 1963 bestand ich dort die Naturwissenschaftliche Vorprüfung und im Oktober 1964 die Ärztliche Vorprüfung. Nach zwei klinischen Semestern an der Freien Universität Berlin kehrte ich zum Wintersemester 1965/66 an die Johannes Gutenberg - Universität Mainz zurück. Dort bestand ich am 5. Juli die Ärztliche Prüfung. Anschließend war ich bis April 1970 Medizinalassistent in den Universitätskliniken Mainz und im Stadtkrankenhaus Rüsselsheim.

Am 4. Juli 1969 heiratete ich Fräulein Traudel Marx. Die Ärztliche Approbation wurde mir am 26. August 1970 erteilt. Seit dem 1. Mai 1970 bin ich am Pharmakologischen Institut der Universität Mainz beschäftigt, wo die vorliegende Dissertation entstand.

